

饲料中添加表皮生长因子对断奶仔猪血清生化指标、血清游离氨基酸和小肠黏膜水解氨基酸含量的影响¹

朱 繁^{1,2} 王丽霞³ 贾杏林^{1*} 尹 佳³ 杨焕胜^{2,3*} 印遇龙^{2,3*}

(1.湖南农业大学动物医学院, 长沙 410128; 2.中国科学院亚热带农业生态研究所, 中国科学院亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 3.湖南师范大学生命科学学院, 动物营养与人体健康实验室, 长沙 410081)

摘 要: 本试验旨在研究饲料中添加表皮生长因子(EGF)对断奶仔猪血清生化指标、血清游离氨基酸和小肠黏膜水解氨基酸含量的影响。选取体重相近、健康的 21 日龄断奶仔猪 42 头, 随机分成 3 组, 每组 14 个重复, 每个重复 1 头仔猪。I 组为对照组, 饲喂基础饲料; II 和 III 组分别饲喂在基础饲料中添加 200 和 400 $\mu\text{g/kg}$ EGF 的试验饲料。试验期为 14 d。结果表明: 1) 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪平均日增重、平均日采食量和料重比没有显著影响 ($P > 0.05$)。2) 断奶后 7 d, II 组血清尿酸含量显著高于 I 组 ($P < 0.05$), 而 II 组和 III 组血清免疫球蛋白 A 含量显著低于 I 组 ($P < 0.05$)。断奶后 14 d, III 组血清肌酐含量显著低于 I 组 ($P < 0.05$), 且 III 组血清谷草转氨酶/谷丙转氨酶值显著低于 I 组和 II 组 ($P < 0.05$)。饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清尿素氮、葡萄糖、总蛋白、白蛋白、球蛋白、免疫球蛋白 M、免疫球蛋白 G、胰岛素样生长因子-1、生长激素含量, 白蛋白/球蛋白, 谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性没有显著影响 ($P > 0.05$)。3) 断奶后 7 d, II 组血清牛磺酸、丙氨酸、瓜氨酸和组氨酸含量显著低于 III 组 ($P < 0.05$), II 组血清精氨酸、谷氨酸和丝氨酸含量显著低于 I 组和 III 组 ($P < 0.05$), 各组之间其他血清氨基酸含量无显著差异 ($P > 0.05$)。4) 断奶后 14 d, 与 I 组和 III 组比, II 组空肠黏膜缬氨酸和回肠黏膜半胱氨酸含量显著升高 ($P < 0.05$), II 组空肠黏膜丝氨酸、谷氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸和组氨酸含量也有升高趋势 ($P < 0.10$)。综上所述, 饲料中添加高剂量 EGF 能够降低血清免疫球蛋白 A 等生化指

收稿日期: 2018-01-03

基金项目: 国家自然科学基金(31402089, 31330075)

作者简介: 朱 繁(1992—), 男, 湖南湘潭人, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与健康养殖。E-mail: 976525013@qq.com

*通信作者: 贾杏林, 副教授, 硕士生导师, E-mail: 1376161391@qq.com; 杨焕胜, 副教授, 硕士生导师, E-mail: yhs@hunnu.edu.cn; 印遇龙, 院士, 博士生导师, E-mail: yinyulong@isa.ac.cn

标含量，而饲料中添加低剂量 EGF 能够降低血清和小肠黏膜部分氨基酸含量。

关键词：EGF；断奶仔猪；血清生化指标；氨基酸；肠道

中图分类号：S828

仔猪早期隔离断奶技术已在当代养猪业得到广泛应用^[1-4]，因为仔猪早期断奶不但可以缩短母猪的繁殖周期，增加母猪年分娩次数和分娩栏舍利用率，还能够降低母源疾病向仔猪垂直传播，改善仔猪健康状况和提高生长性能^[2-5]。然而，早期断奶仔猪消化系统尚未发育成熟，断奶应激常会导致仔猪消化功能紊乱、抗病能力减弱、生长迟缓，甚至造成断奶仔猪死亡，给养猪业造成重大经济损失。表皮生长因子（epidermal growth factor, EGF）是一种由 53 个氨基酸组成的单链多肽，主要由颌下腺、十二指肠布路纳氏（Brunner）腺和胰腺等分泌并释放至十二指肠液、唾液、胰液、血液和乳汁中^[6-7]。EGF 是一种在母乳中发现的含量最高且对仔猪肠道发育具有重要调节作用的肽类物质^[7-9]。研究表明，EGF 通过与肠黏膜受体结合能够改善早期断奶仔猪肠道形态结构、营养物质消化吸收和生长性能^[9-15]。饲料中外源 EGF 可降低断奶仔猪腹泻率^[16]，提高免疫力^[14]和生长性能^[16-17]，促进肠道发育^[12,18-19]。

然而，目前国内外有关 EGF 对断奶仔猪于肠道氨基酸组成、血清游离氨基酸含量以及血清生化指标的影响鲜有报道。本文旨在研究饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清游离氨基酸含量、肠道黏膜氨基酸组成和血清生化指标的影响，旨在为 EGF 在生猪养殖中进一步推广和应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物和分组设计

选取体重为（6.40±0.44） kg 的 21 日龄“杜×长×大”断奶仔猪 42 头，随机分成 3 组，每组 14 个重复，每个重复 1 头仔猪。I 组（对照组）饲喂玉米-豆粕型基础饲料，II 组和 III 组分别在基础饲料中添加 200 和 400 μg/kg EGF。基础饲料组成及营养水平见表 1，EGF 预混剂以喷雾干燥卵黄抗体为载体，含量为 4 000 mg/kg，由赛法特（长沙）生物技术有限公司提供。

表 1 基础饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %	
项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	37.76

膨化玉米 Extruded corn	20.00
豆粕 Soybean meal (46%)	8.00
浓缩大豆蛋白 Soy protein concentrate	7.00
乳清粉 Whey powder	10.00
鱼粉 Fish meal	5.00
血浆蛋白粉 Plasma protein powder	4.50
L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys HCl (98%)	0.33
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.08
L-苏氨酸 L-Thr	0.03
L-色氨酸 L-Trp	0.01
葡萄糖 Glucose	2.00
豆油 Soybean oil	2.00
石粉 Limestone	1.04
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.50
氯化胆碱 Choline chloride	0.10
抗氧化剂 Antioxidants	0.05
氧化锌 ZnO	0.30
柠檬酸 Citric acid	0.30
预混料 Premix ¹⁾	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
代谢能 ME/ (MJ/kg)	14.20
粗蛋白质 CP	18.00
钙 Ca	0.80
有效磷 AP	0.36
赖氨酸 Lys	1.35
蛋氨酸 Met	0.39
蛋氨酸+半胱氨酸 Met + Cys	0.74
苏氨酸 Thr	0.79
色氨酸 Trp	0.22

¹⁾预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 10 000 IU, VD 1 000 IU, VE 380 IU, VK₃ 2.0 mg, VB₁₂ 0.03 mg, VB₂ 12 mg, 烟酸 nicotinic acid 40 mg, 泛酸 pantothenic acid 25 mg, 生物素 biotin 0.25 mg, 叶酸 folic acid 1.6 mg, 硫胺素 thiamine 3.0 mg, VB₆ 2.25 mg, Fe (FeSO₄) 150 mg, Zn (ZnSO₄) 100 mg, Mn (MnSO₄) 30 mg, Cu (CuSO₄) 25 mg, I (KIO₃) 0.5 mg, Co (CoSO₄) 0.3 mg, Se (Na₂SeO₃) 0.3 mg, 抗氧化剂 antioxidants 4.0 mg。

²⁾营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.2 饲养管理

试验在中国科学院亚热带农业生态研究所动物房进行，饲养前动物房先后使用 NaOH 水溶液及菌毒敌消毒液浸泡消毒，然后用清水冲净后彻底干燥。栏舍为封闭式漏缝地板，仔猪单栏饲养，自由采食，鸭嘴式饮水器自由饮水。每头仔猪使用单独的小桶盛装饲料且以每天第 1 次喂料前与当天饲料桶内和料槽内饲料的重量差作为当天的采食量，每 7 d 称量 1 次体重，用以计算平均日采食量、平均日增重和料重比。观察仔猪的食欲精神状况，保持圈内自然通风。试验期 14 d。

1.3 样品采集

试验第 7 天和第 14 天各组随机选取仔猪 7 头，前腔静脉采血 10 mL 后静脉注射（颈静脉）4%戊巴比妥钠溶液^[1]，仔猪麻醉后进行屠宰取样。仔猪屠宰后打开腹腔，取出胃肠道，按组织学把小肠划分为十二指肠、空肠和回肠，迅速取空肠中段和回肠中段黏膜样品，液氮速冻后于 -80 °C 冷冻保存备用。血液样品室温静置 2 h 后，4 °C、3 000 r/min 离心 10 min 分离血清。然后将血清样品立即储存在 -80 °C 冰箱中，用以分析氨基酸含量及血液清生化指标。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 血清生化指标

将血清样品经 3 000 r/min、4 °C 离心 10 min，取上清用于检测血清生化指标，所用试剂盒购自湖南永和阳光生物科技股份有限公司，所用仪器为东芝全自动生化分析仪（TBA-120FR）。

1.4.2 血清游离氨基酸含量

取 600 μ L 血清注入 1.5 mL 离心管中，随后加入等体积 8%磺基水杨酸，充分混匀，4 °C 沉淀过夜。取出离心管 10 000 r/min、4 °C 离心 10 min。使用移液枪将上清吸出至新的 1.5 mL 离心管中，上清液经 0.22 μ m 滤膜过滤后转移至上样瓶中，然后使用日立 L-8900 型氨基酸分析仪测定血清游离氨基酸含量。

1.4.3 黏膜水解氨基酸

黏膜样品经液氮研磨成粉末后取 0.1 g 装入安瓿瓶中，然后向安瓿瓶中加入 10 mL 浓度为 6 mol/L 的盐酸。随后用酒精喷灯将安瓿瓶封口，置于 110 °C 烘箱中 24 h，使样品充分酸水解。然后将安瓿瓶中水解液移至 100 mL 容量瓶中，用双蒸水冲洗安瓿瓶数次，用双蒸水

定容至容量瓶至刻度线，充分摇匀。取 1 mL 定容后样品经 0.45 μm 滤膜过滤后加入上样瓶中，然后使用日立 L-8900 型氨基酸分析仪测定氨基酸含量。

1.5 数据处理与统计分析

所有试验数据采用 SPSS 22.0 软件进行方差分析,结果以“平均值±标准差”表示，经 *F* 检验组间差异显著再用 Duncan 氏法进行多重比较，以分析 EGF 对断奶仔猪血清生化指标、血清游离氨基酸和黏膜水解氨基酸含量的影响。 $P<0.05$ 为差异显著， $0.05\leq P<0.10$ 为显著的趋势。

2 结 果

2.1 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪生长性能和血清生化指标的影响

由表 2 可知，饲料中添加 EGF 对断奶仔猪平均日增重、平均日采食量和料重比没有显著影响 ($P>0.05$)。

表 2 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪生长性能的影响

Table 2 Effects of dietary EGF on growth performance of weaned piglets				
项目	组别 Groups			<i>P</i> 值
Items	I	II	III	<i>P</i> -value
平均日增重	204.25±26.39	180.95±23.06	180.10±15.80	0.847
ADG/(g/d)				
平均日采食量	296.77±23.22	272.10±23.69	294.53±23.70	0.772
ADFI/(g/d)				
料重比 F/G	1.35±0.11	1.44±0.11	1.52±0.15	0.315

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

由表 3 可知，断奶后 7 d，饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清尿酸和免疫球蛋白 A (IgA) 含量有显著影响 ($P<0.05$)，与 I 组相比，II 组断奶仔猪血清尿酸含量显著升高 ($P<0.05$)，II 组、III 组断奶仔猪血清 IgA 含量显著降低 ($P<0.05$)。断奶后 14 d，饲料中添加 EGF 对

断奶仔猪血清肌酐含量、谷草转氨酶/谷丙转氨酶值有显著影响 ($P<0.05$)，与 I 组相比，II 组断奶仔猪血清肌酐含量显著降低 ($P<0.05$)；与 I 组和 II 组相比，III 组断奶仔猪血清谷草转氨酶/谷丙转氨酶值显著降低 ($P<0.05$)。各组之间其余指标均无显著差异 ($P>0.05$)。

表 3 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清生化指标的影响

Table 3 Effects of dietary EGF on serum biochemical indices of weaned piglets

项目 Items	时间 Time/d	组别 Groups			P 值
		I	II	III	P-value
尿素氮	7	3.36±0.77	3.56±0.64	3.14±0.54	0.491
Urea nitrogen/(mmol/L)	14	3.85±1.15	4.52±1.11	3.54±0.58	0.190
肌酐	7	109.50±13.11	102.57±18.29	103.43±12.51	0.675
Creatinine/(μmol/L)	14	97.33±8.52 ^a	90.57±5.50 ^{ab}	86.43±7.09 ^b	0.041
尿酸	7	9.18±2.29 ^b	13.32±3.68 ^a	10.40±3.09 ^{ab}	0.049
Uric acid/(μmol/L)	14	6.26±1.78	5.87±1.96	7.73±2.77	0.281
葡萄糖	7	3.93±0.80	3.51±1.11	3.78±0.63	0.686
Glucose/(mmol/L)	14	1.56±0.96	1.40±1.07	1.27±1.47	0.902
谷草转氨酶	7	64.33±12.71	60.86±15.19	65.57±10.08	0.780
Glutamic-oxalacetic transaminase/(U/L)	14	165.29±79.99	141.57±54.96	96.86±32.58	0.117
谷丙转氨酶	7	29.17±6.15	26.86±8.01	25.43±4.72	0.396
Glutamic-pyruvic transaminase/(U/L)	14	43.43±22.04	44.71±18.94	42.86±6.96	0.979
谷草转氨酶/谷丙转氨酶	7	2.23±0.28	2.40±0.64	2.62±0.41	0.357
Glutamic-oxalacetic transaminase/glutamic-pyruvic transaminase	14	3.84±0.65 ^a	3.33±1.00 ^a	3.17±1.06 ^b	0.016
总蛋白	7	42.48±5.36	42.94±7.40	44.94±4.40	0.722
Total protein/(g/L)	14	43.30±3.84	44.04±3.26	44.34±5.49	0.907
白蛋白	7	30.77±3.96	29.09±4.70	31.56±2.47	0.481
Albumin/(g/L)	14	27.78±2.58	29.54±2.44	29.39±2.69	0.424

球蛋白	7	11.72±2.32	13.85±3.72	13.38±2.86	0.442
Globulin/(g/L)	14	15.52±1.97	14.50±2.49	14.96±3.76	0.820
白蛋白/球蛋白	7	2.70±0.54	2.18±0.56	2.45±0.52	0.266
Albumin/globulin	14	0.26±0.05	0.31±0.09	0.30±0.09	0.427
免疫球蛋白 M	7	18.05±6.26	18.57±6.70	17.98±7.22	0.985
IgM/(mg/dL)	14	15.73±7.85	20.61±4.53	17.93±4.60	0.319
免疫球蛋白 A	7	0.13±0.06 ^a	0.06±0.12 ^b	0.06±0.13 ^b	0.017
IgA/(mg/dL)	14	0.68±0.98	0.76±0.14	0.81±0.18	0.176
免疫球蛋白 G	7	173.33±34.44	182.17±51.15	188.91±40.36	0.811
IgG/(mg/dL)	14	156.91±35.38	178.93±33.67	154.46±26.80	0.400
胰岛素样生长因子-1	7	62.07±27.25	58.30±25.13	80.27±17.32	0.177
Insulin-like growth factor-1/(μg/L)	14	1.58±0.04	1.68±0.15	1.73±0.18	0.144
生长激素	7	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.736
Growth hormone/(μg/L)	14	1.34±0.15	1.33±0.13	1.44±0.09	0.231

2.2 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清游离氨基酸含量的影响

由表 4 可知，断奶后 7 d，III组断奶仔猪血清牛磺酸、丙氨酸、瓜氨酸和组氨酸含量显著高于II组（ $P<0.05$ ），但III组与I组、II组与I组之间没有显著差异（ $P>0.05$ ）。与I组和III组相比，II组断奶仔猪血清丝氨酸、谷氨酸和精氨酸含量显著降低（ $P<0.05$ ），血清天冬氨酸和脯氨酸含量有降低趋势（ $P<0.10$ ），各组之间其他血清氨基酸含量无显著差异（ $P>0.05$ ）。断奶后 14 d，II组断奶仔猪血清血清瓜氨酸含量与I组和III组相比有升高趋势（ $P<0.10$ ），各组之间其他血清氨基酸含量无显著差异（ $P>0.05$ ）。

表 4 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清游离氨基酸含量的影响

Table 4 Effects of dietary EGF on serum free amino acids content of weaned piglets					μg/mL
项目 Items	时间 Time/d	组别 Groups			P 值 P-value
		I	II	III	
牛磺酸 Tau	7	33.63±9.14 ^{ab}	26.56±8.78 ^b	40.85±7.21 ^a	0.024
	14	1.54±0.19	1.64±0.06	1.59±0.06	0.351
天冬氨酸 Asp	7	5.10±1.85	2.93±0.85	5.25±2.07	0.051

	14	8.67±2.69	8.60±2.39	8.76±1.14	0.949
苏氨酸 Thr	7	9.28±1.75	6.83±2.21	9.76±3.08	0.111
	14	12.31±4.10	14.33±5.03	11.47±2.37	0.405
丝氨酸 Ser	7	16.59±2.94 ^a	10.05±6.04 ^b	15.79±6.81 ^a	0.044
	14	24.26±3.93	21.17±3.63	22.90±3.06	0.311
谷氨酸 Glu	7	63.44±23.94 ^a	33.03±16.79 ^b	63.41±14.38 ^a	0.015
	14	74.59±15.74	64.89±15.82	64.75±5.52	0.336
甘氨酸 Gly	7	93.78±20.44	87.78±18.17	104.85±9.15	0.207
	14	122.52±23.18	105.22±13.19	111.72±17.08	0.248
丙氨酸 Ala	7	71.25±14.56 ^{ab}	56.42±18.70 ^b	79.14±10.95 ^a	0.043
	14	75.42±7.57	64.28±13.84	66.73±9.60	0.187
瓜氨酸 Cit	7	12.24±4.13 ^{ab}	9.35±3.30 ^b	15.05±2.14 ^a	0.020
	14	18.09±1.15	20.44±2.17	18.66±1.54	0.074
缬氨酸 Val	7	23.35±4.05	20.36±4.80	24.26±4.78	0.312
	14	24.84±4.11	26.40±3.73	22.81±4.31	0.278
半胱氨酸 Cys	7	2.15±1.19	2.41±0.90	2.68±0.99	0.654
	14	12.46±3.59	9.77±3.69	8.51±4.36	0.213
蛋氨酸 Met	7	5.61±1.77	4.50±1.87	5.66±1.19	0.726
	14	6.74±1.26	6.39±1.53	6.14±1.34	0.740
异亮氨酸 Ile	7	8.68±1.61	7.44±2.01	9.63±2.52	0.208
	14	15.53±3.06	14.93±3.50	13.51±2.63	0.488
亮氨酸 Leu	7	1.32±0.06	1.23±0.11	1.37±0.16	0.132
	14	25.23±2.76	24.82±3.07	24.36±4.20	0.901
酪氨酸 Tyr	7	11.96±2.60	10.86±3.32	13.77±2.24	0.174
	14	16.08±3.05	15.34±3.00	13.25±1.86	0.165
苯丙氨酸 Phe	7	15.48±2.30	12.99±5.66	14.54±3.31	0.559
	14	15.69±1.49	15.71±3.32	15.01±2.02	0.832
赖氨酸 Lys	7	27.11±9.54	21.54±5.58	24.50±5.40	0.440
	14	31.37±5.77	31.30±6.72	27.43±4.86	0.349

组氨酸 His	7	10.92±1.99 ^{ab}	9.36±2.71 ^b	13.29±1.90 ^a	0.016
	14	8.53±1.88	8.97±1.64	8.19±3.02	0.831
精氨酸 Arg	7	17.90±4.05 ^a	11.08±5.73 ^b	19.83±3.99 ^a	0.011
	14	17.10±5.78	20.42±5.19	22.44±8.27	0.366
脯氨酸 Pro	7	26.91±3.66	24.28±5.62	29.86±3.18	0.079
	14	30.56±2.00	28.08±2.74	28.14±2.76	0.177

2.3 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪空肠和回肠黏膜水解氨基酸含量的影响

由表 5 可知，断奶后 7 d，饲料中添加 EGF 对断奶仔猪空肠黏膜水解氨基酸含量无显著影响 ($P>0.05$)。断奶后 14 d，II 组断奶仔猪空肠黏膜缬氨酸含量显著高于 I 组 ($P<0.05$)；与 I 和 III 组相比，II 组断奶仔猪空肠黏膜丝氨酸、谷氨酸、丙氨酸、组氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸含量有升高趋势 ($P<0.10$)；各组之间其他氨基酸含量无显著差异 ($P>0.05$)。

表 5 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪空肠黏膜水解氨基酸含量的影响

Table 5 Effects of dietary EGF on jejunum mucosa hydrolytic amino acid content of weaned piglets %					
项目 Items	时间 Time/d	组别 Groups			P 值 P-value
		I	II	III	
天冬氨酸 Asp	7	0.84±0.26	0.87±0.17	0.87±0.30	0.762
	14	1.29±0.09	1.41±0.11	1.35±0.14	0.189
苏氨酸 Thr	7	0.43±0.14	0.45±0.09	0.45±0.15	0.797
	14	0.68±0.05	0.74±0.06	0.72±0.08	0.209
丝氨酸 Ser	7	0.45±0.15	0.47±0.09	0.48±0.17	0.718
	14	0.69±0.04	0.77±0.06	0.75±0.08	0.091
谷氨酸 Glu	7	1.26±0.39	1.34±0.26	1.35±0.45	0.646
	14	1.93±1.15	2.10±0.17	2.01±0.20	0.097
甘氨酸 Gly	7	0.47±0.15	0.50±0.10	0.52±0.17	0.540
	14	0.72±0.05	0.78±0.06	0.75±0.07	0.224
丙氨酸 Ala	7	0.49±0.15	0.51±0.10	0.52±0.17	0.736

chinaXiv:201812.00323v1

	14	0.74±0.05	0.82±0.07	0.79±0.08	0.099
	7	0.11±0.04	0.12±0.03	0.10±0.03	0.477
半胱氨酸 Cys	14	0.16±0.04	0.21±0.03	0.20±0.05	0.096
	7	0.45±0.14	0.47±0.09	0.47±0.16	0.810
缬氨酸 Val	14	0.69±0.04 ^b	0.77±0.05 ^a	0.72±0.07 ^{ab}	0.047
	7	0.19±0.10	0.14±0.08	0.16±0.09	0.659
蛋氨酸 Met	14	0.19±0.12	0.23±0.12	0.17±0.09	0.620
	7	0.39±0.11	0.41±0.09	0.40±0.12	0.978
异亮氨酸 Ile	14	0.59±0.04	0.65±0.05	0.62±0.05	0.094
	7	0.73±0.22	0.78±0.17	0.76±0.25	0.917
亮氨酸 Leu	14	1.14±0.07	1.25±0.10	1.20±0.11	0.253
	7	0.39±0.13	0.37±0.09	0.34±0.11	0.751
酪氨酸 Tyr	14	0.49±0.05	0.53±0.05	0.49±0.06	0.290
	7	0.43±0.14	0.44±0.90	0.43±0.14	0.982
苯丙氨酸 Phe	14	0.59±0.04	0.66±0.02	0.62±0.06	0.088
	7	0.71±0.23	0.76±0.13	0.74±0.24	0.860
赖氨酸 Lys	14	1.06±0.08	1.16±0.08	1.13±0.11	0.155
	7	0.25±0.09	0.24±0.05	0.24±0.08	0.969
组氨酸 His	14	0.32±0.02	0.36±0.02	0.34±0.02	0.06
	7	0.69±0.25	0.68±0.15	0.67±0.22	0.961
精氨酸 Arg	14	0.90±0.08	0.99±0.07	0.94±0.09	0.143

由表 6 可知，断奶后 7 d，饲料中添加 EGF 对断奶仔猪回肠黏膜水解氨基酸含量无显著影响（ $P>0.05$ ）。断奶后 14 d，II 组断奶仔猪回肠黏膜半胱氨酸含量显著高于 I 组和 III 组（ $P<0.05$ ），且 II 组回肠黏膜组氨酸含量也有高于 I 组和 III 组的趋势（ $P<0.10$ ），各组之间其他氨基酸含量无显著差异（ $P>0.05$ ）。

表 6 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪回肠黏膜水解氨基酸含量的影响

Table 6 Effects of dietary EGF on ileum mucosa hydrolytic amino acid content of weaned piglets %

项目 Items	时间 Time/d	组别 Groups			P 值
		I	II	III	P-value
天冬氨酸 Asp	7	1.07±0.18	1.03±0.13	1.08±0.14	0.847
	14	1.19±0.14	1.26±0.29	1.14±0.23	0.891
苏氨酸 Thr	7	0.60±0.12	0.58±0.07	0.60±0.08	0.903
	14	0.67±0.07	0.71±0.14	0.65±0.12	0.981
丝氨酸 Ser	7	0.63±0.12	0.60±0.08	0.62±0.07	0.857
	14	0.72±0.07	0.76±0.17	0.67±0.13	0.842
谷氨酸 Glu	7	1.66±0.26	1.61±0.20	1.68±0.18	0.865
	14	1.83±0.23	1.93±0.46	1.66±0.30	0.518
甘氨酸 Gly	7	0.66±0.11	0.62±0.07	0.65±0.06	0.691
	14	0.74±0.10	0.73±0.09	0.67±0.12	0.446
丙氨酸 Ala	7	0.73±0.08	0.79±0.17	0.68±0.12	0.618
	14	0.66±0.10	0.62±0.08	0.65±0.07	0.697
半胱氨酸 Cys	7	0.14±0.06	0.14±0.05	0.15±0.03	0.952
	14	0.19±0.02 ^b	0.27±0.06 ^a	0.19±0.05 ^b	0.025
缬氨酸 Val	7	0.64±0.10	0.59±0.08	0.61±0.06	0.495
	14	0.69±0.07	0.76±0.15	0.63±0.11	0.151
蛋氨酸 Met	7	0.08±0.13	0.15±0.15	0.11±0.11	0.722
	14	0.17±0.16	0.14±0.14	0.11±0.16	0.502
异亮氨酸 Ile	7	0.56±0.09	0.51±0.06	0.53±0.04	0.483
	14	0.60±0.05	0.65±0.12	0.55±0.09	0.147
亮氨酸 Leu	7	1.06±0.17	0.99±0.12	1.01±0.08	0.645
	14	1.14±0.12	1.20±0.24	1.01±0.17	0.200
酪氨酸 Tyr	7	0.44±0.10	0.43±0.06	0.45±0.09	0.919
	14	0.49±0.06	0.52±0.12	0.46±0.09	0.418
苯丙氨酸 Phe	7	0.54±0.08	0.50±0.08	0.54±0.07	0.639
	14	0.56±0.06	0.63±0.12	0.55±0.09	0.256

赖氨酸 Lys	7	0.91±0.17	0.87±0.10	0.93±0.11	0.794
	14	1.04±0.12	1.13±0.25	0.98±0.18	0.864
组氨酸 His	7	0.33±0.05	0.30±0.04	0.32±0.06	0.468
	14	0.33±0.04	0.37±0.06	0.31±0.05	0.063
精氨酸 Arg	7	0.81±0.14	0.78±0.08	0.87±0.21	0.588
	14	0.91±0.13	0.95±0.21	0.82±0.12	0.106

3 讨 论

3.1 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪生长性能和血清生化指标的影响

血液是动物机体内环境的重要组成部分,是机体与外界环境以及体内各组织之间物质交换的媒介^[20]。由于本试验的目的主要偏重于 EGF 对断奶仔猪生理代谢的影响,试验动物数量较小,虽然各组之间在生长性能上具有一定的差异,但是并没有统计学上的显著性。尿酸是嘌呤代谢的最终产物,先由嘌呤核苷酸水解成鸟嘌呤和腺嘌呤,随后经脱氨作用而生成黄嘌呤,再氧化形成尿酸^[21]。猪体内含有的尿酸酶能将尿酸氧化成为尿囊素,随尿液排出体外,使血液中的尿酸含量始终维持稳定水平。在本次试验当中,200 μg/kg EGF 组断奶 7 d 后仔猪血清中尿酸含量有短暂升高的情况,而 400 μg/kg EGF 组无此情况,说明 EGF 对断奶仔猪血清尿酸含量与添加剂量有关。由于 EGF 由小肽构成,不能被动物体吸收,主要作用于动物肠道黏膜。因此,饲料中添加 EGF 可能通过调节仔猪肠道消化吸收或代谢功能影响机体嘌呤代谢,从而调节尿酸生成。笔者查阅前人对 EGF 的研究结果,未发现有关 EGF 影响机体尿酸生成的试验结果,后续试验有必要进一步阐明饲料中添加 EGF 影响尿酸生成的内在机制。血液肌酐是检测肾功能的常用指标,其含量可反映肾小球滤过能力。与对照组相比,饲料中添加 400 μg/kg EGF 能够显著降低断奶后 14 d 仔猪血清肌酐含量,表明饲料中添加 EGF 可能会提高仔猪肾小球滤过能力。血清谷丙转氨酶/谷草转氨酶值是反映肝功能的指标,当干细胞受到损伤时,血清谷草转氨酶/谷丙转氨酶值会升高,饲料中添加 400 μg/kg EGF 能够显著降低血清谷草转氨酶/谷丙转氨酶值,表明饲料中添加 EGF 可能对肝脏具有保护作用。血清 IgA 含量是反映仔猪免疫能力的指标^[22],与对照组相比,饲料中添加 200 或 400 μg/kg EGF 能够显著降低断奶 7 d 仔猪血清 IgA 含量,表明 EGF 可能降低仔猪免疫反应。因此,饲料中添加 EGF 能够调节仔猪机体代谢、肝肾功能和免疫能力,但是 EGF 的作用机制仍需进一步研究。

3.2 饲料中添加 EGF 对断奶仔猪血清游离氨基酸及黏膜水解氨基酸含量的影响

血液中氨基酸的含量受多种因素影响,如环境、营养以及疾病等。由于血清游离氨基酸直接参与机体氨基酸的代谢及蛋白质沉积,所以其含量可用来反映动物营养状况^[23]。肠道是一个高营养需求的组织,其能量消耗、蛋白质和氨基酸需求相对于组织重量远高于机体平均水平。一方面肠道上皮细胞的快速更新需要大量营养物质合成细胞组分,另一方面小肠上皮吸收营养物质需要消耗大量能量。饲料中添加 EGF 能够调节仔猪肠道上皮细胞更新,从而增加肠道绒毛高度和隐窝深度。本试验结果表明:断奶后 14 d, 200 $\mu\text{g/kg}$ EGF 组空场和回肠黏膜大部分水解氨基酸含量高于对照组和 400 $\mu\text{g/kg}$ EGF 组,而 200 $\mu\text{g/kg}$ EGF 组血清大部分氨基酸含量低于对照组和 400 $\mu\text{g/kg}$ EGF 组。因此,饲料中添加低剂量 EGF 可能通过改善肠道形态结构增加黏膜氨基酸沉积,进而降低了血液氨基酸含量。进一步需要研究肠道氨基酸代谢与肠道上皮细胞更新之间的关系,以及饲料中添加 EGF 对断奶仔猪氨基酸需要量的影响。

4. 结 论

饲料中添加高剂量 EGF 能够降低血清 IgA 等生化指标含量,而饲料中添加低剂量 EGF 能够降低血清和小肠黏膜部分氨基酸含量。

参考文献:

- [1] KONG X F, WU G Y, LIAO Y P, et al. Effects of Chinese herbal ultra-fine powder as a dietary additive on growth performance, serum metabolites and intestinal health in early-weaned piglets[J]. Livestock Science, 2007, 108(1/2/3): 272–275.
- [2] MAIN R G, DRITZ S S, TOKACH M D, et al. Increasing weaning age improves pig performance in a multisite production system[J]. Journal of Animal Science, 2004, 82(5): 1499–1507.
- [3] ZHONG J F, WU W G, ZHANG X Q, et al. Effects of dietary addition of heat-killed *Mycobacterium phlei* on growth performance, immune status and anti-oxidative capacity in early weaned piglets[J]. Archives of Animal Nutrition, 2016, 70(4): 249–262.
- [4] GU X H, LI D F, SHE R P. Effect of weaning on small intestinal structure and function in the piglet[J]. Archiv Für Tierernährung, 2002, 56(4): 275–286.

- [5] 李焱,单安山,谭龙,等.表皮生长因子和胰岛素样生长因子-I对断奶仔猪免疫功能的影响[J].中国畜牧杂志,2006,42(3):17–20.
- [6] 胡莹莹,王琦,陈琰.表皮生长因子及其作用机制[J].哈尔滨师范大学(自然科学版),2013,29(3):91–95.
- [7] BEDFORD A.The effect of *Lactococcus lactis*-produced epidermal growth factor on the growth and intestine development of early-weaned pigs[D].Ph.D.Thesis.Ontario:The University of Guelph,2014:65–95.
- [8] CLARK J A,GAN H,SAMOCHA A J,et al.Enterocyte-specific epidermal growth factor prevents barrier dysfunction and improves mortality in murine peritonitis[J].American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology,2009,297(3):G471–G479.
- [9] CHEUNG Q C,YUAN Z F,DYCE P W,et al.Generation of epidermal growth factor-expressing *Lactococcus lactis* and its enhancement on intestinal development and growth of early-weaned mice[J].American Journal of Clinical Nutrition,2009,89(3):871–879.
- [10] WANG S J,ZHOU L,CHEN H N,et al.Analysis of the biological activities of *Saccharomyces cerevisiae* expressing intracellular EGF,extracellular EGF,andtagged EGF in early-weaned rats[J].Applied Microbiology and Biotechnology,2015,99(5):2179–2189.
- [11] CELLINI C,XU J,BUCHMILLER-CRAIR T.Effect of epidermal growth factor on small intestinal sodium/glucose cotransporter-1 expression in a rabbit model of intrauterine growth retardation[J].Journal of Pediatric Surgery,2005,40(12):1892–1897.
- [12] KANG P,TOMS D,YIN Y L,et al.Epidermal growth factor-expressing *Lactococcus lactis* enhances intestinal development of early-weaned pigs[J].The Journal of Nutrition,2010,140(4):806–811.
- [13] WANG S J,GUO C H,ZHOU L,et al.Comparison of the biological activities of *Saccharomyces cerevisiae*-expressed intracellular EGF,extracellular EGF,and tagged EGF in early-weaned pigs[J].Applied Microbiology and Biotechnology,2015,99(17):7125–7135.
- [14] LEE D N,KUO T Y,CHEN M C,et al.Expression of porcine epidermal growth factor in *Pichia*

pastoris and its biology activity in early-weaned piglets[J].Life Sciences,2006,78(6):649–654.

[15] CELLINI C J,XU A,ARRIAGA A,et al.Effect of epidermal growth factor infusion on fetal rabbit intrauterine growth retardation and small intestinal development[J].Journal of Pediatric Surgery,2004,39(6):891–897.

[16] BEDFORD A,HUYNH E,FU M L,et al.Growth performance of early-weaned pigs is enhanced by feeding epidermal growth factor-expressing *Lactococcus lactis* fermentation product[J].Journal of Biotechnology,2014,173:47–52.

[17] BEDFORD A,LI Z,LI M,et al.Epidermal growth factor-expressing *Lactococcus lactis* enhances growth performance of early-weaned pigs fed diets devoid of blood plasma[J].Journal of Animal Science,2012,90(Suppl 4):4–6.

[18] LEE D N,CHANG W F,YU I T,et al.Effects of diets supplemented with recombinant epidermal growth factor and glutamine on gastrointestinal tract development of early-weaned piglets[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2008,21(4):582–589.

[19] BEDFORD A,CHEN T,HUYNH E,et al.Epidermal growth factor containing culture supernatant enhances intestine development of early-weaned pigs *in vivo*:potential mechanisms involved[J].Journal of Biotechnology,2015,196–197:9–19.

[20] WANG J P,YOO J S,KIM H J,et al.Nutrient digestibility,blood profiles and fecal microbiota are influenced by chitooligosaccharide supplementation of growing pigs[J].Livestock Science,2009,125(2/3):298–303.

[21] 平凡,晏婷婷,汪悦.尿酸在肠道代谢机制中的研究进展[J].医学研究生学报,2015,28(7):763–766.

[22] 杨俊伟,黎磊石,许瑞吉.糖尿病大鼠的肾脏肥大和尿 EGF 变化[J].肾脏病与透析肾移植杂志,1993,2(3):235–238.

[23] 姚军虎,王康宁,宋代军.肉仔鸡血浆游离氨基酸浓度变化规律的研究[J].西北农业大学学报,1999,27(6):97–101.

Effects of Dietary Epidermal Growth Factor on Serum Biochemical Indices, Serum Free Amino Acids and Intestinal Mucosal Hydrolytic Amino Acids Contents of Weaned Piglets

ZHU Fan^{1,2} WANG Lixia³ JIA Xinglin^{1*} YIN Jia³ YANG Huansheng^{2,3*} YIN Yulong^{2,3*}

(1. *Animal Medical School of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China*; 2. *Key Laboratory of Subtropical Agricultural Ecological Process of Chinese Academy of Sciences, Sub-Tropical Agricultural Ecology Research Institute of Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China*; 3. *Animal Nutrition And Human Health Laboratory, Life Sciences College, Hunan Normal University, Changsha 410081, China*)

Abstract: The objective of this experiment was to investigate the effects of dietary epidermal growth factor (EGF) on serum biochemical index, serum free amino acids and intestinal mucosal hydrolytic amino acids contents of weaned piglets. Forty-two healthy piglets with similar body weight were weaned at 21 days of age and randomly assigned into 3 groups with 14 replicates per group and 1 piglet per replicate. Piglets in group I (control group) were fed a basal diet, and the others in groups II and III were fed the basal diet supplemented with 200 and 400 $\mu\text{g/kg}$ EGF, respectively. The experiment lasted for 14 days. The results showed as follows: 1) dietary supplemented with EGF had no significant effects on average daily gain, average daily feed intake and feed to gain ratio of weaned piglets ($P > 0.05$). 2) After weaning 7 days, the serum uric acid content in group II was significantly higher than that in group I ($P < 0.05$), the serum immunoglobulin A content in groups II and III was significantly lower than that in group I ($P < 0.05$). After weaning 14 days, the serum creatinine content in group III was significantly lower than that in group I ($P < 0.05$), the serum glutamic-oxalacetic transaminase/glutamic-pyruvic transaminase value in group III was significantly lower than that in groups I and II ($P < 0.05$). Dietary supplemented with EGF had no significant effects on serum urea nitrogen, glucose, total protein, albumin, globulin, immunoglobulin M, immunoglobulin G, insulin-like growth factor-1, growth hormone contents, and albumin/globulin and glutamic-oxalacetic transaminase and glutamic-pyruvic transaminase activities of weaned piglets ($P > 0.05$). 3) After weaning 7 days, the contents of taurine, alanine, citrulline and histidine in serum in group II were significantly lower than those in group III ($P < 0.05$), the contents of arginine, glutamate and serine in serum in group II were significantly lower than those in groups I and III ($P < 0.05$), and there were no significant differences on other serum amino acid contents among all groups ($P > 0.05$). 4) After weaning 14 days, compared with groups I and III, the contents of valine in jejunum mucosa and cysteine in ileum mucosa in group II were significantly increased ($P < 0.05$), and the contents of serine, glutamic acid, alanine, cysteine, isoleucine, phenylalanine and histidine in jejunum mucosa in group II were

*Corresponding authors: JIA Xinglin, associate professor, E-mail: 1376161391@qq.com; YANG Huansheng, associate professor, E-mail: yhs@hunnu.edu.cn; YIN Yulong, academician, E-mail: yinyulong@isa.ac.cn
(责任编辑 武海龙)

tended to be decreased ($P < 0.10$). In conclusion, dietary supplemented with high dose EGF can reduce serum immunoglobulin A and other biochemical indices contents, while dietary supplemented with low dose EGF can reduce the contents of some amino acid in serum and intestinal mucosa.

Key words: EGF; weaned piglets; serum biochemical indices; amino acids; intestine